

Study of the bacteriological quality of powdered milk intended for processing in Tunisia.

Etude de la qualité bactériologique des laits en poudre destinés à la transformation en Tunisie.

W. OUESLATI¹*, O. NASRAOUI¹ AND F. SOUSSI¹

¹Laboratory of Food Microbiology, National School of Veterinary Medicine of Sidi Thabet, University Manouba, Tunisia (LR14AGR03)

*Corresponding author: drwalid04@yahoo.fr

Abstract - Our study aims to assess the bacteriological quality of powdered milk intended for processing in Tunisia. This assessment allows verifying the compliance of these products with the regulatory criteria and their aptitude for technological transformation, particularly in the cheese industry. Our study shows that 20% (6/30) of the milk powder batches analyzed are of unsatisfactory bacteriological quality. The exceeding of the revealed limit values relates to technological and process hygiene criteria. Thus, corrective measures must be applied by manufacturers as stipulated by regulation n°2073/2005 amended by European commission regulation n°1441/2007 of December 05, 2007. These measures consist of controlling the effectiveness of heat treatment, preventing recontamination of finished products and improving production hygiene. The use of these powdered milks loaded with *Clostridium tyrobutyricum* spores is strongly discouraged in order to prevent the phenomenon of late swelling, especially in cooked pressed cheeses.

Keywords : Powdered milk, bacteriological quality, spore-forming bacteria, food safety criteria, process hygiene criteria, *Clostridium tyrobutyricum*, late swelling of cheeses.

Resumé - Notre étude vise l'évaluation de la qualité bactériologique des laits en poudre destinés à la transformation en Tunisie. Cette évaluation permet de vérifier la conformité de ces produits aux critères réglementaires en vigueur et aux critères technologiques notamment dans l'industrie fromagère. Les résultats de ce travail montrent que 20% (6/30) des lots de laits en poudre analysés sont de qualité bactériologique non satisfaisante. Les dépassements des valeurs limites révélés sont en rapport avec des critères d'hygiène des procédés et des critères technologiques. Ainsi, des mesures correctives doivent être appliquées par les industriels tel que stipulé par le règlement n°2073/2005 modifié par le règlement de la commission européenne n°1441/2007 de 05 décembre 2007. Ces mesures consistent à contrôler l'efficacité du traitement thermique, prévenir la recontamination des produits finis et améliorer l'hygiène de la production. En effet, l'utilisation de ces laits en poudre chargés en microorganismes notamment en spores de *Clostridium tyrobutyricum* est fortement déconseillée afin de prévenir le phénomène de gonflement tardif des fromages à pâte pressée cuite.

Mots-clés : Lait en poudre, qualité bactériologique, bactéries sporulées, critères de sécurité sanitaire, critères d'hygiène des procédés, *Clostridium tyrobutyricum*, gonflement tardif des fromages.

1. Introduction

Chez l'être humain comme chez tous les mammifères, le lait est le premier aliment du nouveau-né et sa seule source de nutriments au cours de la période postnatale. En effet, le lait est riche en nutriments (matière grasse, matières protéiques, lactose et calcium) ce qui lui confère le statut d'un aliment complet. La consommation régulière du lait des mammifères domestiques, par l'homme, date de 4000 ans avant Jésus-Christ. Par contre, l'utilisation systématique du lait de vache pour nourrir les enfants en particulier date de moins de 100 ans. En effet, le lait n'est devenu un aliment salubre qu'après l'invention des procédés de conservation du lait par la chaleur. Le traitement thermique et la déshydratation, sont deux



procédés technologiques utilisés pour prolonger la durée de conservation du lait et faciliter par conséquent sa distribution. Les laits en poudre doivent de ce fait être conformes aux normes en vigueur. Cette exigence est généralement respectée à la sortie des usines. Néanmoins, au cours de la conservation, la stabilité des laits en poudre peut être entravée suite à une évolution bactériologique, surtout en fin de date limite de consommation.

Ceci justifie notre étude, qui vise l'évaluation de la qualité bactériologique des laits en poudre en Tunisie. Cette évaluation permet de vérifier la conformité de ces produits aux critères réglementaires en vigueur et aux critères technologiques notamment dans l'industrie fromagère.

2. Matériels et méthodes

2.1. Echantillons

Notre étude s'est déroulée pendant sept mois (septembre 2019 – mars 2020) et a porté sur 150 échantillons de lait en poudre prélevés de 30 lots différents, soit l'équivalent de 5 échantillons par lot. Ces échantillons ont été collectés par les responsables qualité des établissements agro-alimentaires conformément aux normes en vigueur et envoyés le jour même au Laboratoire de Microbiologie Alimentaire de Sidi Thabet.

2.2. Méthodes d'analyses bactériologiques

En référence aux normes en vigueur, les analyses réalisées ont porté sur la recherche de *Salmonella* sp. (critère de sécurité) ainsi que sur le dénombrement de la Microflore Aérobie Mésophile Totale (M.A.M.T), des Staphylocoques à coagulase positive (Staphylocoques c+) et des *Escherichia coli* (*E. coli*) (critères d'hygiène des procédés). En outre, pour apprécier leur aptitude à la transformation fromagère, les laits en poudre ont fait l'objet d'un dénombrement des spores de *Clostridium tyrobutyricum* (*Cl. tyrobutyricum*).

2.2.1. Préparation des solutions mères et des dilutions décimales

Afin d'éviter toute contamination, les analyses des échantillons ont été effectuées sous une hotte bactériologique. Le plan de travail est préalablement nettoyé à l'alcool 90° et le matériel utilisé est flambé. Dès sa réception, l'échantillon est placé dans un plateau et débarrassé partiellement après désinfection à l'alcool. On prélève successivement 10g et 25g qui sont placés, chacun à part, dans un sac Stomacher portant le code attribué à l'échantillon. Ce dernier est placé sur une balance tarée à zéro pour effectuer la pesée. Puis 90ml d'eau peptonée tamponnée sont versés dans le sac contenant 10g, et 225ml sont versés dans le sac contenant 25g de l'échantillon. Chacun des sacs est fermé en chassant l'air et placé ensuite dans l'homogénéisateur pendant 3 minutes. Les solutions « mère », de dilution 10^{-1} , sont ainsi préparées, on les laisse reposer pendant 30 minutes pour la revivification des bactéries qu'elles contiennent. Les solutions contenant 25g serviront pour la recherche de *Salmonella* sp. Les solutions contenant 10g serviront pour le dénombrement des autres critères : M.A.M.T, Staphylocoques c+, *E. coli* et *Cl. tyrobutyricum*.

2.2.2. Recherche de *Salmonella* sp.

La recherche de *Salmonella* sp. a été effectuée en se référant à la norme internationale ISO 6579 (2002) (ANSES, 2011a). Cette norme prévoit pour la recherche des salmonelles quatre phases successives à savoir une phase de pré-enrichissement, une phase d'enrichissement sélectif, une phase d'isolement sur deux milieux de culture différents représentés par la gélose Xylose-Lysine-Désoxycholate (XLD) et une gélose au choix et une phase d'identification. L'aspect des colonies suspectes varie en fonction de la nature du milieu d'isolement sélectif utilisé. Une identification biochimique est nécessaire pour la confirmation de la présence de salmonelles (Figure 1).

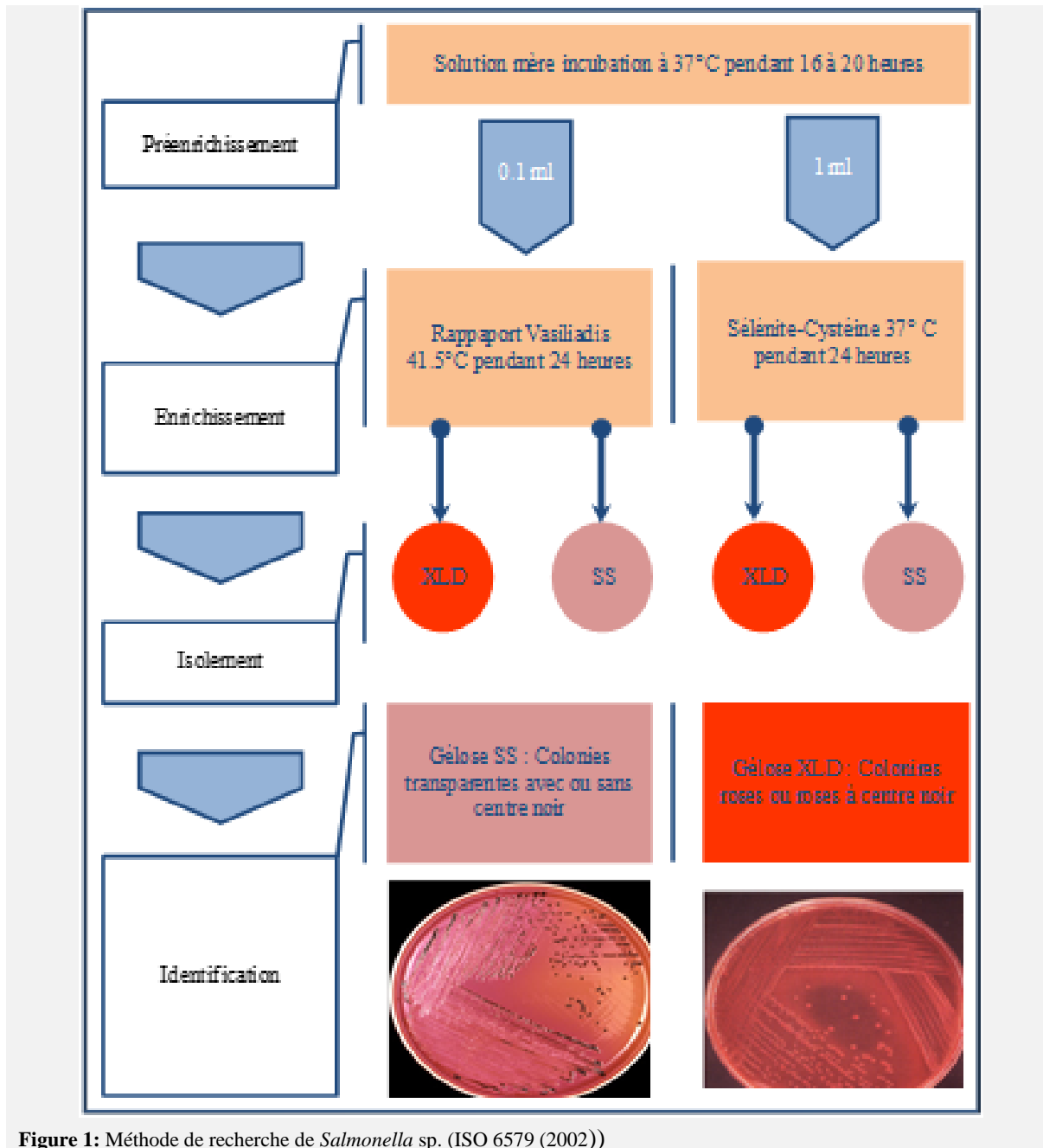


Figure 1: Méthode de recherche de *Salmonella* sp. (ISO 6579 (2002))

2.2.3. Dénombrement de la M.A.M.T.

Le dénombrement de la M.A.M.T repose sur l'ensemencement en double et en profondeur d'une gélose *Plate Count Agar* (P.C.A.) (BIOKAR®) qui est une gélose nutritive permettant la croissance des germes aérobies. Les boîtes de P.C.A. ensemencées (à raison d'un ml de la dilution correspondante par boîte) sont incubées à 30°C pendant 24 à 72 heures. Les colonies caractéristiques sont blanches d'environ 2 mm de diamètre (Figure 2).

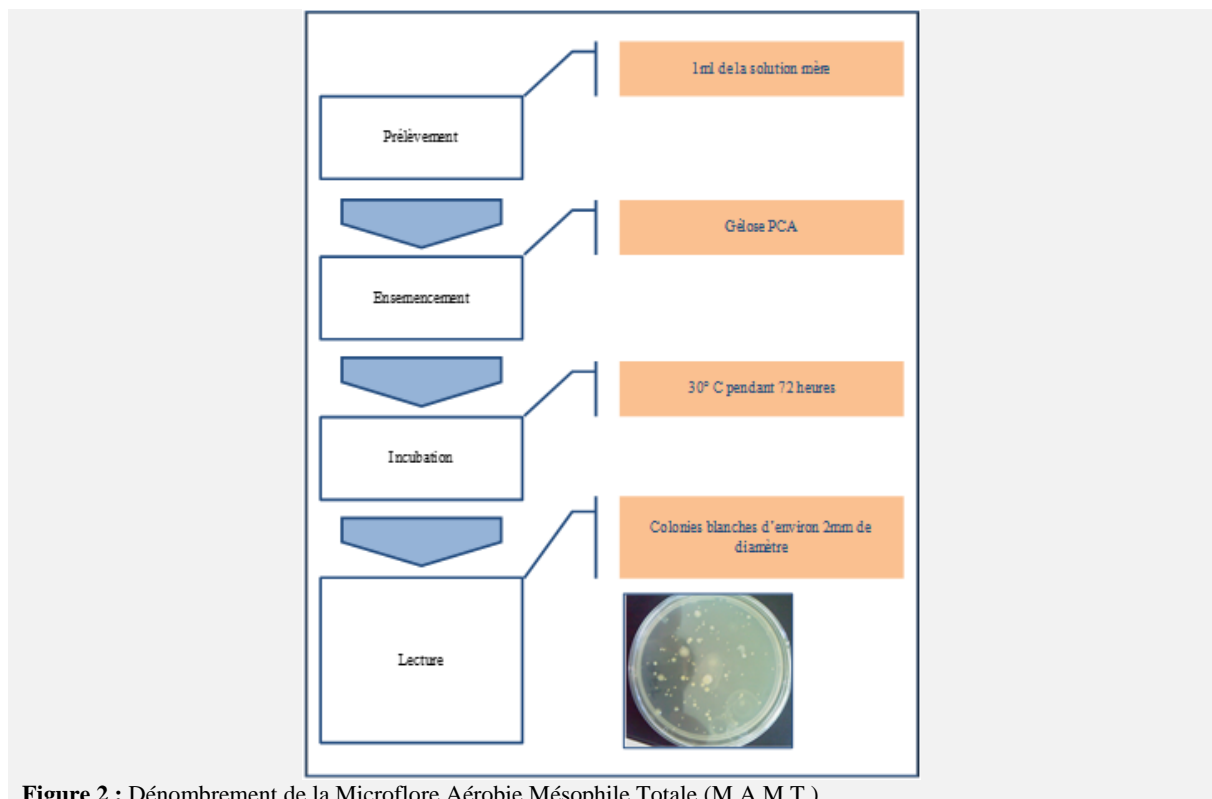


Figure 2 : Dénombrement de la Microflore Aérobie Mésophile Totale (M.A.M.T.)

2.2.4. Dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive

Le dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive (dont le chef de fil est représenté par l'espèce *Staphylococcus aureus*) est réalisé par le système de numération 3M™Pétrifilm™Staph Express. Il s'agit d'une méthode de routine validée par rapport à la méthode de référence qui est la technique utilisant la gélose de Baird-Parker décrite dans la norme ISO 6888-1:1999.

L'ensemencement du Pétrifilm Staph Express par un ml de la suspension mère s'effectue au centre du film intérieur qui doit être recouvert par la suite par le film protecteur. Une légère pression exercée sur le Pétrifilm à l'aide du diffuseur est nécessaire pour assurer une répartition homogène de l'inoculum. Les Pétrifilms ensemencés sont incubés à 37°C pendant 24 heures. Les colonies suspectes sont de coloration rouge violette. Le disque permet de mettre en évidence le caractère D-Nase + de *S. aureus*. Les colonies de *S. aureus* sont de coloration rouge violette et entourées par un halo clair (Figure 3).

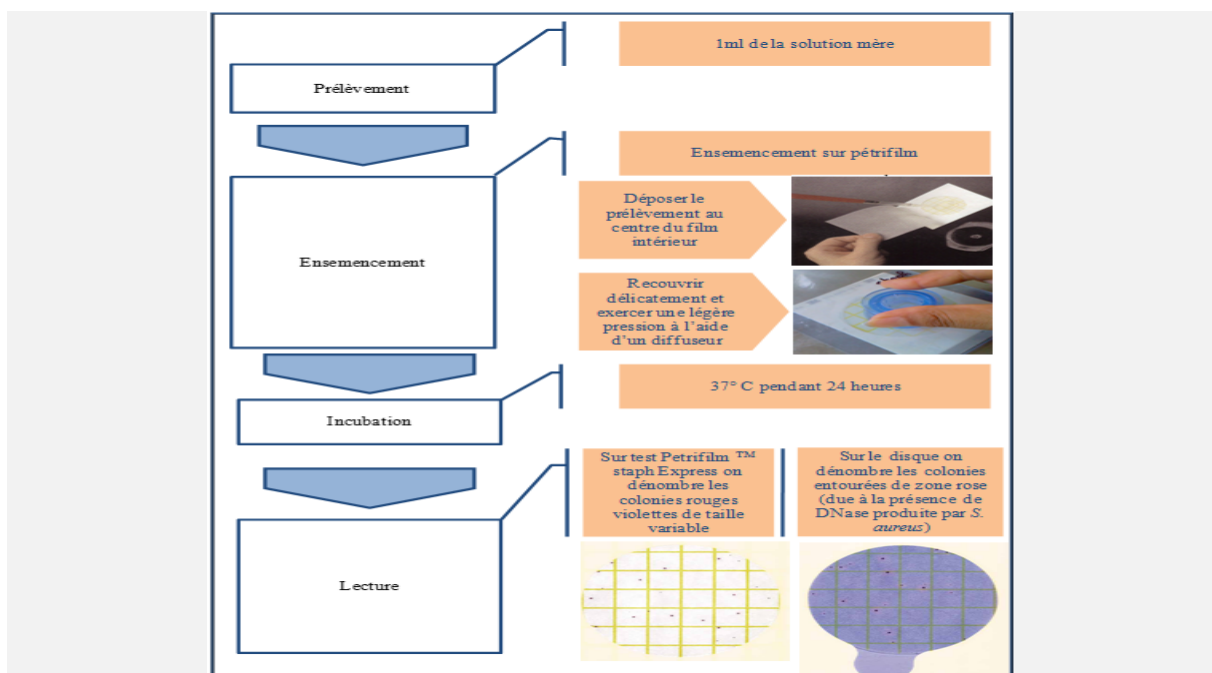


Figure 3 : Méthode de dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive

2.2.5. Dénombrement des *E. coli*

Le dénombrement se fait sur la gélose TBX (BIOKAR®). L'ensemencement est en double et en profondeur à partir de chaque dilution. L'incubation des boîtes ensemencées est effectuée à 44°C pendant 24 heures. Les colonies caractéristiques sont de coloration bleue ou bleue verte et de diamètre supérieur ou égal à 1 mm (Figure 4).

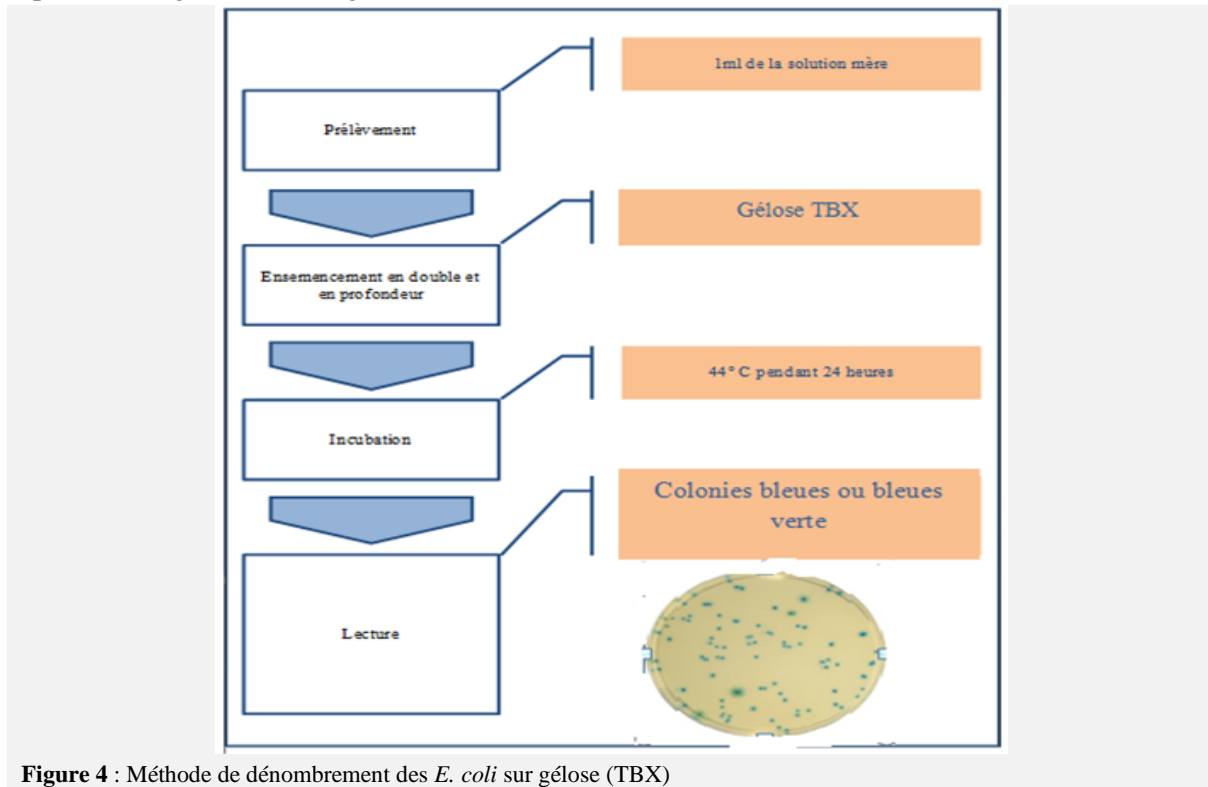


Figure 4 : Méthode de dénombrement des *E. coli* sur gélose (TBX)

2.2.6. Dénombrement des spores de *Cl. tyrobutyricum*

Le milieu de culture utilisé pour le dénombrement des spores *Cl. tyrobutyricum* dans les laits en poudre est le bouillon de Bryant et Burkey modifié par Bergère (Biokar®). La suspension mère qui correspond à la dilution 10^{-1} est transférée aseptiquement dans un tube à vis pour la réalisation du choc thermique. Cette étape consiste à soumettre les tubes contenant les échantillons à un chauffage à 85°C dans un bain marie, pendant 10 minutes puis les refroidir sous jet d'eau de robinet froid. Par la suite à partir de chaque suspension mère, quatre dilutions décimales sont préparées. La technique d'ensemencement consiste à transférer aseptiquement et en profondeur 1 ml de chaque dilution dans deux tubes contenant le bouillon de culture et une cloche de Durham débarrassée de bulles de gaz. L'incubation est réalisée dans une étuve réglée à 37°C pendant 7 jours. Les tubes positifs correspondent aux milieux présentant un dégagement gazeux et dont la hauteur de la bulle de gaz est supérieure au $1/10^{\text{ème}}$ de la hauteur de la cloche de Durham (Figure 5).

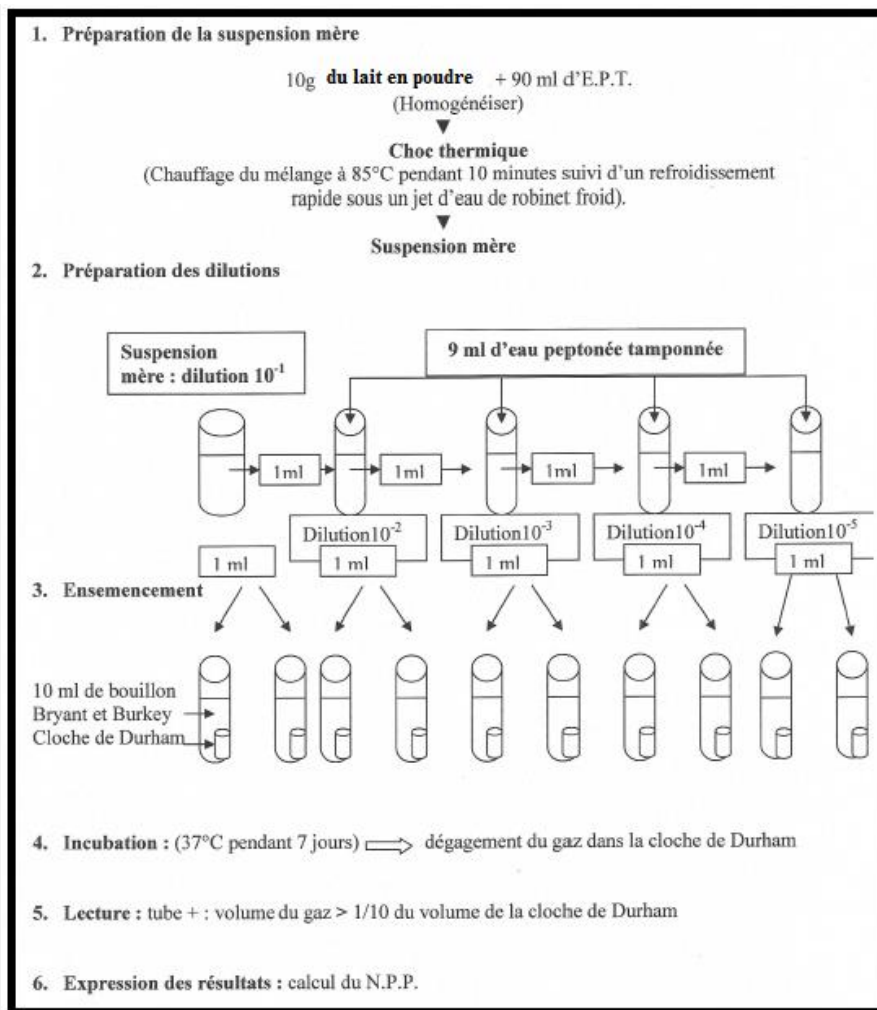


Figure 5 : Méthode de dénombrement des spores de *Cl. tyrobutyricum*

Pour chaque échantillon analysé, le résultat est exprimé par le « Nombre le Plus Probable » (N.P.P.) de spores de *Cl. tyrobutyricum*. Ce nombre est déterminé d’après la table de Mac Crady, qui permet à partir de chaque séquence de nombre de tubes positifs, l’obtention du coefficient NPP correspondant. Le nombre de spores par gramme de lait en poudre correspond à la valeur du coefficient NPP multipliée par le facteur de la dilution la moins importante (Figure 6). Ainsi, d’après l’exemple présenté dans la figure 8, la teneur de lait en poudre en spores de *Cl. tyrobutyricum* est égale à $13 \times 10^3 = 1,3 \cdot 10^4$ N.P.P. spores/g.

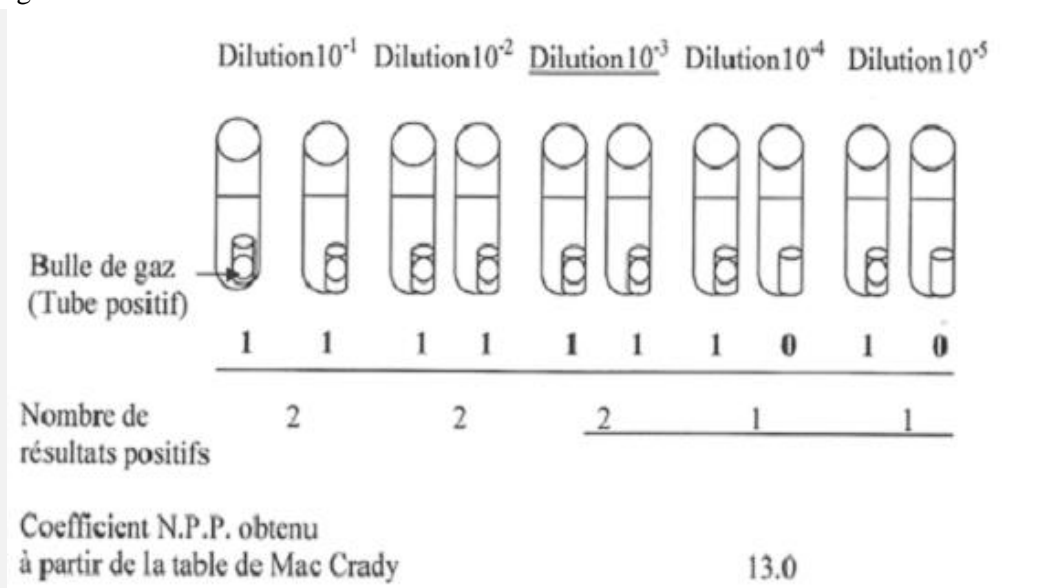


Figure 6 : Calcul du nombre de spores de *Cl. tyrobutyricum* par gramme de lait en poudre

3. Résultats et interprétation

3.1. Résultats

Le Tableau 1 présente les résultats des analyses bactériologiques réalisées au cours de cette étude et qui ont porté sur 30 lots de laits en poudre.

Tableau 1 : Résultats des analyses bactériologiques des laits en poudre

Critères microbiologiques		Laits en poudre		
		Qualité satisfaisante	Qualité acceptable	Qualité non satisfaisante
Critères de sécurité	<i>Salmonella</i> sp.	30 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
	M.A.M.T à 30°C	18 (60%)	08 (27%)	04 (13%)
Critères d'hygiène des procédés	Staphylocoques	22 (73%)	05 (17%)	03 (10%)
	<i>E. coli</i>	20 (66%)	05 (17%)	05 (17%)
Critères d'aptitude à la transformation fromagère	<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	11 (37%)	13 (43%)	6 (20%)

3.2. Interprétation

L'interprétation des résultats a été faite en référence aux critères retenus par la norme tunisienne NT 1640 et par le règlement CE n°2073/2005 modifié par le CE n°1441/2007 qui fixent, pour chaque critère microbiologique, les normes d'acceptabilité du produit. D'autre part, le recours aux références bibliographiques et aux recommandations des professionnels opérant dans le secteur fromager, nous a permis de fixer les limites concernant le critère d'appréciation de l'aptitude des laits en poudre à la transformation fromagère. Ce critère est représenté par les spores de clostridies appartenant au groupe butyrique et particulièrement l'espèce *Clostridium tyrobutyricum*.

Le tableau 2 présente les limites des critères microbiologiques qui vont nous servir pour interpréter les résultats de cette étude.

Tableau 2 : Critères microbiologiques relatifs aux laits en poudre

Critères microbiologiques		Laits en poudre			
		Plan d'échantillonnage		Limites	
		n	c	m	M
Critères de sécurité	<i>Salmonella</i> sp.	5	0	Absence dans 25 g	
	M.A.M.T à 30°C	5	2	5.10 ⁴ ufc/g	5.10 ⁵ ufc/g
Critères d'hygiène des procédés	Staphylocoques à coagulase positive	5	2	10 ufc/g	10 ² ufc/g
	<i>E. coli</i>	5	2	1 ufc/g	10 ufc/g
Critères d'aptitude à la transformation fromagère	<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	5	2	1 NPP spore/g	10 NPP spore/g

ufc : unité formant colonie, M.A.M.T : Microflore Aérobie Mésophile Totale
 n : nombre d'échantillons, c : criticité, m : valeur normative, M : seuil d'acceptabilité

3.2.1. Critères réglementaires

Les critères réglementaires sont représentés par les critères de sécurité (*Salmonella* sp.) et les critères d'hygiène des procédés (M.A.M.T., Staphylocoques c+ et *E. coli*).

3.2.1.1. Critères de sécurité sanitaire

Parmi les échantillons étudiés, aucun n'a révélé la présence de *Salmonella* sp. Donc, les laits en poudre sont tous de qualité satisfaisante pour le critère de sécurité sanitaire.

3.2.1.2. Critères d'hygiène des procédés

Pour les critères d'hygiène de procédés (M.A.M.T., Staphylocoques c+ et *E. coli*) les taux de contamination des laits en poudre sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Classification des laits en poudre selon les critères d'hygiène des procédés

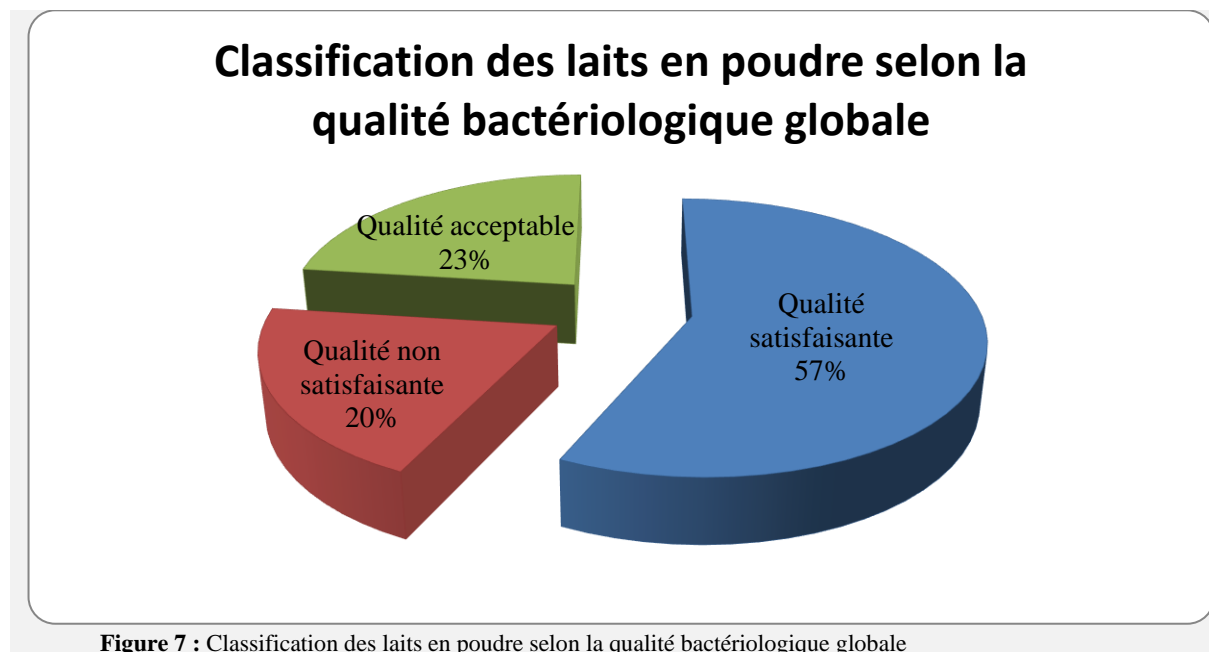
Classification	Nombre des lots (%)		
	M.A.M.T.	Staphylocoques c+	<i>E. coli</i>
Satisfaisant	18 (60%)	22 (73%)	20 (66%)
Acceptable	08 (27%)	05 (17%)	05 (17%)
Non satisfaisant	04 (13%)	03 (10%)	05 (17%)
Total	30 (100%)	30 (100%)	30 (100%)

3.2.1.3. Qualité bactériologique globale

En tenant compte de tous les critères ensemble, un échantillon est dit de qualité satisfaisante si tous les critères sont satisfaisants. Il est de qualité acceptable si un ou plusieurs critères sont acceptable est aucun critère n'est de qualité non satisfaisante. Enfin, un échantillon est non satisfaisant si au moins un de ses critères est non satisfaisant quel que soit les autres critères (Tableau 4, Figure 7).

Tableau 4 : Classification des laits en poudre selon leur qualité bactériologique globale

	Qualité satisfaisante	Qualité acceptable	Qualité non satisfaisante
Nombre des échantillons (%)	17 (57%)	7 (23%)	6 (20%)



3.2.2. Critère d'aptitude à la transformation fromagère

L'appréciation de l'aptitude des laits en poudre à la transformation fromagère repose sur les résultats de dénombrement des spores de *Clostridium tyrobutyricum* (Tableau 1). L'interprétation de ces résultats selon le plan à trois classes permet d'identifier les lots de laits en poudre pouvant être intégrés dans les recettes des fromages sans risque de gonflement tardif des produits finis (laits en poudre de qualité satisfaisante) ou avec risque modéré qui peut être réduit à un niveau acceptable suite à l'utilisation de certains additifs tels que les lysozymes, les nisines et les nitrates (laits en poudre de qualité acceptable). Par ailleurs, l'utilisation des laits en poudre de qualité non satisfaisante (chargés en spores de *Clostridium tyrobutyricum*) est fortement déconseillée afin de prévenir le phénomène de gonflement tardif notamment des fromages à pâte pressée cuite. Les taux de contamination des laits en poudre en spores de *Clostridium tyrobutyricum* sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 5 : Classification des laits en poudre selon leur teneur en spores de *C. tyrobutyricum*

	Qualité satisfaisante	Qualité acceptable	Qualité non satisfaisante	Total
Nombre des lots (%)	11 (37%)	13 (43%)	6 (20%)	30(100%)

4. Discussion

En se référant au règlement n°2073/2005 modifié par le règlement de la commission européenne n°1441/2007 de 05 décembre 2007, 20% (6/30) des lots de laits en poudre analysés sont de qualité non satisfaisante et ceci est lié aux dépassements de certaines limites relatives aux critères intervenant dans la qualité bactériologique globale de ce produit à savoir les critères de sécurité et les critères d'hygiène des procédés. Ces dépassements pourraient être expliqués par la multitude des origines de contamination des laits en poudre tout au long de la chaîne de fabrication et pendant la durée de leur conservation.

4.1. Critères de sécurité sanitaire

Les laits en poudre analysés présentent une qualité parfaitement satisfaisante pour le critère *Salmonella* sp. En effet, cette bactérie représente un excellent indicateur de la qualité sanitaire d'un produit. Ainsi, les laits en poudre analysés ne présentent pas de risque sur la santé du consommateur. L'absence de *Salmonella* sp. dans les laits en poudre est étroitement liée au traitement thermique que subit le lait, matière première, avant son entrée dans la chaîne de fabrication. Ce traitement permet d'éliminer les salmonelles puisqu'il s'agit de bactéries non sporulées et par conséquent ne présentent pas de forme de résistance à la chaleur. En effet, des études faites sur les dérivés laitiers fabriqués à partir de lait cru montrent que plus de 10% de ces produits sont contaminés par les salmonelles (Anses, 2011a).

La contamination du lait par les salmonelles résulte soit d'une mammite salmonellique soit d'un défaut d'hygiène de la traite. *Salmonella* sp. est un hôte habituel de l'intestin des bovins. Contrairement aux laits crus, les laits traités thermiquement sont généralement exempts de ces germes. Ceci a été confirmé par Cassinello et Pereira dans une étude faite au Portugal en 1999 sur des fromages artisanaux fabriqués à partir de lait pasteurisé supplémenté en lait en poudre. Par conséquent, il est clairement prouvé que le traitement thermique appliqué lors de la fabrication des laits en poudre est indispensable pour garantir leur sécurité sanitaire même si la chaleur altère relativement la qualité organoleptique et nutritionnelle du lait.

4.2. Critères d'hygiène des procédés

4.2.1. M.A.M.T.

Notre étude montre que 60% (18/30) les laits en poudre sont de qualité satisfaisante, 27% (8/30) de qualité acceptable et uniquement 13% (4/30) de qualité non satisfaisante. Les dépassements enregistrés dans les cas des laits en poudre de qualité non satisfaisante sont liés à une charge bactérienne très élevée des laits crus (matière première) ou à une recontamination des produits finis après le traitement thermique.

Eu égard aux lois de destruction thermique des bactéries, l'efficacité d'un traitement thermique dépend du niveau de contamination initial du produit. En ce sens plus le lait cru est chargé en bactéries plus le produit fini est de mauvaise qualité bactériologique (Murphy et coll., 2010). Ainsi, les laits destinés à la transformation doivent être sélectionnés non seulement en fonction de leur aptitude à subir un traitement thermique (qualité physico-chimique) mais également en fonction de leur qualité bactériologique (Bachtarzi et coll., 2015).

La qualité bactériologique du lait dépend particulièrement du respect des bonnes pratiques d'hygiène de la traite, du transport et du stockage réfrigéré du lait (Bi et coll., 2016). Ceci justifie l'importance du système de paiement du lait à la qualité. La mise en place de ce système permet d'encourager les éleveurs à produire un lait de bonne qualité bactériologique et de garantir par conséquent une meilleure efficacité des traitements thermiques.

D'autre part, un défaut de conditionnement des laits en poudre après le traitement par la chaleur peut être à l'origine d'une recontamination de ces produits. A cet effet, les laits en poudre doivent être conditionnés aseptiquement après leur production pour garantir leur salubrité.

4.2.2. Staphylocoques à coagulase positive

Le taux des laits en poudre de qualité non satisfaisante vis-à-vis du critère staphylocoques à coagulase positive est faible, il est de 10% (3/30). D'autre part, les teneurs des laits en poudre analysés sont

nettement inférieures au seuil de production des entérotoxines (10^5 ufc/g) responsables de l'entérototoxicose staphylococcique chez l'homme (Anses, 2011b).

La contamination des laits en poudre par les staphylocoques à coagulase positive notamment par *Staphylococcus aureus* pourrait résulter d'une contamination primaire du lait cru ou d'une recontamination d'origine humaine des produits finis. En effet ce germe est l'hôte naturel de la peau et des muqueuses chez l'homme. *Staphylococcus aureus* se trouve principalement au niveau des fausses nasales, de la gorge, du cuir chevelu, des mains et de l'intestin (Fatet, 2001). *Staphylococcus aureus* est également une bactérie pyogène. Il est souvent isolé des lésions cutanées purulentes.

L'absence du respect des règles d'hygiène de la traite notamment l'hygiène des mains et le non conservation du lait sous régime de froid positif permettent d'augmenter le niveau de contamination du lait par *Staphylococcus aureus*.

4.2.3. Escherichia coli

L'interprétation de nos résultats montre que 17% (5/30) des échantillons analysés sont de qualité non satisfaisante pour ce critère. Ceci pourrait être lié à un niveau de contamination fécale élevé du lait cru causé par un défaut d'hygiène de la traite ou à une recontamination des produits finis lors de leur stockage (Ali et coll., 2016) En effet, suite à un défaut d'étanchéité de leur conditionnement, les laits en poudre peuvent faire l'objet d'une contamination fécale causée par les animaux nuisibles. A cet effet, des plans de lutte contre les nuisibles doivent être mis en place dans les entrepôts de stockage pour prévenir la contamination des denrées alimentaires (Anses, 2011c).

4.3. Qualité bactériologique globale

Notre étude montre que 20% (6/30) des lots de laits en poudre analysés sont de qualité bactériologique non satisfaisante. Les dépassements des valeurs limites révélés sont en rapport avec des critères d'hygiène des procédés uniquement. Ainsi, des mesures correctives doivent être appliquées par les industriels tel que stipulé par le règlement n°2073/2005 modifié par le règlement de la commission européenne n°1441/2007 de 05 décembre 2007.

Ces mesures correctives consistent à contrôler l'efficacité du traitement thermique, prévenir la recontamination des produits finis et améliorer l'hygiène de la production.

4.4. Critère d'aptitude à la transformation fromagère

Notre travail révèle que 20% (6/30) des lots de laits en poudre analysés sont de qualité non satisfaisante concernant le critère *Clostridium tyrobutyricum*. La présence de spores de *Clostridium tyrobutyricum* dans le lait en poudre, constitue une entrave à la fabrication de ces fromages, puisqu'elle est à l'origine de l'apparition du phénomène de gonflement tardif. Parmi ces fromages il y a lieu de citer en particulier ceux à pâte pressée non cuite (Edam) ou cuite (Emmental) (Su et coll., 2000).

La spore de *Clostridium tyrobutyricum* trouve en effet, dans le fromage les conditions propices à sa germination (anaérobiose, température...) (Xin et coll., 2014). La fréquence et la gravité des accidents butyriques sont assez variables d'une fromagerie à l'autre. Dans l'emmental, la fermentation butyrique se traduit par des ouvertures légèrement excessives pour des contaminations comprises entre 200 et 500 spores par litre. Les anomalies de fabrication deviennent plus fréquentes (15% à 70% des meules fabriquées) lorsque la contamination dépasse 500 spores par litre. En effet, le fromage présente des ouvertures excessives qui peuvent être à l'origine d'un gonflement généralisé allant jusqu'à l'éclatement de la meule. Le goût est désagréable. Lorsque le lait contient plus de 2000 spores par litre, le gonflement généralisé se voit dans la quasi-totalité des meules fabriquées (Chamba, 1984).

Dans les gruyères, la fermentation butyrique apparaît dès que la contamination atteint 200 spores par litre. Elle se manifeste très nettement par des ouvertures excessives à partir de 500 spores par litre (Chamba, 1984).

Les moyens de prévention de la fermentation butyrique sont variables. En effet, certaines régions fromagères, comme la région de la Gruyère, interdisent l'utilisation de l'ensilage pour l'alimentation des vaches litières (Bergère, 1985). En outre, l'utilisation des additifs (lysozymes, nisines, nitrates) est

efficace. Le lysozyme est une enzyme présente dans de nombreuses sécrétions animales. Le lysozyme actuellement commercialisé est préparé à partir de blanc d'œuf de poule. C'est une protéine basique stable à pH acide même à des températures relativement élevées mais labile à pH alcalin (André, 1987). L'inhibition de la croissance de *Clostridium tyrobutyricum*, par les lysozymes, se manifeste à partir de 400 à 500 unité/ml et ne devient totale qu'au-delà de 1000 unité /ml.

Les essais qui ont été réalisés en fabrication de fromage à pâte pressée montrent que le lysozyme ajouté au lait à une dose de 500 unité/ml constitue un moyen efficace permettant d'inhiber la fermentation butyrique sans perturber la coagulation. La texture du fromage ne semble pas modifiée.

La nisine est un antibiotique polypeptidique sécrété par certaines souches de *Streptococcus lactis*. La nisine est utilisée en industrie alimentaire pour lutter contre les gonflements dus à *Clostridium tyrobutyricum*, spécialement dans le cas des fromages fondus. Elle est ajoutée avant la fonte à des doses de 100 à 300 unités/ml de fromage. Elle est utilisée soit sous forme de préparation commerciale, soit le plus souvent sous forme de levain préparé avec une souche nisinogène. Par contre, dans le cas de fromage à pâte cuite, la nisine n'est pas utilisée à cause de l'absence de levains adéquats.

L'emploi des nitrates en fromagerie constitue un moyen efficace de prévention du gonflement butyrique. Les quantités de nitrate utilisées en pratique dans les pâtes pressées ne dépassent pas 20 à 30 g pour 100 litres de lait. Dans les pâtes cuites, son emploi n'est pas beaucoup développé à cause des risques d'inhibition de la fermentation propionique. Des doses de 5 à 7 g de nitrate pour 100 litre sont déjà efficaces contre le gonflement butyrique si le lait n'est pas trop contaminé en spores (Gagnaire et coll., 2015). Parmi les traitements du lait, la bactofugation est un procédé assez efficace. L'élimination des spores butyriques est de 80 à 90% lorsque le lait réceptionné n'est pas trop contaminé.

5. Conclusion

Le lait en poudre est un produit solide obtenu par élimination de l'eau du lait. La déshydratation quasi-totale permet au lait en poudre de se conserver à température ambiante. La qualité microbiologique des laits en poudre est fortement dépendante de celle du lait cru. La microflore de ce produit est classiquement subdivisée en microflore pathogène et en microflore pouvant avoir un impact technologique, représentée essentiellement par des bactéries sporulées dont le chef de file est l'espèce *Clostridium tyrobutyricum*.

Les laits en poudre analysés dans le cadre de notre travail présentent une qualité parfaitement satisfaisante pour les critères de sécurité sanitaire. Par ailleurs, notre étude montre que 20% (6/30) des lots de laits en poudre analysés sont de qualité bactériologique non satisfaisante. Les dépassements des valeurs limites révélés sont en rapport avec des critères d'hygiène des procédés uniquement. Ainsi, des mesures correctives doivent être appliquées par les industriels tel que stipulé par le règlement n°2073/2005 modifié par le règlement de la commission européenne n°1441/2007 de 05 décembre 2007. Ces mesures correctives consistent à contrôler l'efficacité du traitement thermique, prévenir la recontamination des produits finis et améliorer l'hygiène de la production.

D'autre part, notre travail révèle que 20% (6/30) des lots de laits en poudre analysés sont de qualité non satisfaisante concernant le critère *Clostridium tyrobutyricum*. L'utilisation de ces laits en poudre chargés en spores de *Clostridium tyrobutyricum* est fortement déconseillée afin de prévenir le phénomène de gonflement tardif notamment des fromages à pâte pressée cuite. Par ailleurs, l'utilisation de certains additifs tels que les lysozymes, les nisines et les nitrates est nécessaire lors de l'intégration des laits en poudre de qualité acceptable dans les recettes des fromages.

6. Références

- Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses, 2011a).** Salmonella spp. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments.
- Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses, 2011b).** Staphylococcus aureus et entérotoxines staphylococciques. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments.
- Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses, 2011c).** E. coli entérohémorragiques (EHEC). Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments.
- Cassinello J. et Pereira S. 1999.** La qualité du lait et du fromage dans cinq exploitations caprines de la Serra do Caldeirão. Direção Regional de Agricultura do Algarve (DRAALG), Patação, 8000 FARO, Portugal.
- Fatet P. 2001.** Les staphylocoques dans les produits laitiers. FDCL 2001.
- Su, Y. Ingham, S., 2000.** Influence of milk centrifugation in preventing gas formation by *Clostridium tyrobutyricum* in gooda cheese. Int. J. Food Microbiol., 25, 54, 3, 147-154.
- Chamba, J.F. 1984.** Manifestation de la fermentation butyrique dans l'emmental. Technologie du lait. 986 :9-13.
- Bergère, J.L., 1985.** Mise en évidence de deux groupes sérologiques principaux chez *Clostridium tyrobutyricum* en et dans le fromage. Le lait, n°575-576, 215-233.
- André, E. 1987.** Fromages à pâte pressée cuite. In le fromage, 2^{ème} édition. Technique et documentation. Lavoisier, Paris, 241-245.
- Ali, T., Ur Rahman, S., Zhang, L., Shahid, M., Zhang, S., Liu, G., Gao, J., Han, B. (2016).** ESBL-Producing *Escherichia coli* from Cows Suffering Mastitis in China Contain Clinical Class 1 Integrons with CTX-M Linked to ISCR1. *Front Microbiol.*, 30(7), 1931.
- Bachtarzi, N., Amourache, L., Dehkal, G. (2015).** Qualité du lait cru destiné à la fabrication d'un fromage à pâte molle type Camembert dans une laiterie de Constantine (Est algérien). *International Journal of Innovation and Scientific Research*, 17(1), 34-42.
- Bi, Y., Wang, Y.J., Qin, Y., Guix Vallverdú, R., Maldonado García, J., Sun, W., Li, S., Cao, Z. (2016).** Prevalence of Bovine Mastitis Pathogens in Bulk Tank Milk in China. *PLoS One*, 17,11-18.
- Gagnaire, V., Jardin, J., Rabah, H., Briard-Bion, V., Jan, G. (2015).** Emmental Cheese Environment Enhances *Propionibacterium freudenreichii* Stress Tolerance. *PLoS ONE*, 10(8).
- Murphy, S.C., Boor, K.J., (2010).** *Sources and Causes of High Bacteria Counts in Raw Milk: An Abbreviated Review.*
- Xin, F., Wu, YR., He, J. (2014).** Simultaneous fermentation of glucose and xylose to butanol by *Clostridium* sp. strain BOH3. *Appl. Environ. Microbiol.*, 80: 4771-4778.